

ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

Из Бактериологического Отделения Ленинградского Государственного И-та для усовершенствования врачей.

Об органотаксисе*

Проф. Г. Д. Белоногова и А. А. Миллера (Ленинград).

(С 6 табл.).

1. Работы, сделанные в лаборатории проф. Белоногова, начиная с 1921 г.¹, ясно показали, что механизм, при помощи которого вакцинотерапия оказывает лечебный эффект, заключается в выделении специфической очаговой реакции. Эта реакция получается, несмотря на то, что место инъекции вакцины может быть возможно далеко от инфекционного очага. Таким образом, надо предположить, что вприснутая вакцина, вследствие химотаксиса, по крайней мере частично, устремляется в сенсibilизованный очаг и там вызывает специфическую реакцию. Что это так, доказываются: а) апрорными соображениями, б) экспериментами.

а) Туберкулиновая очаговая реакция может быть вызвана таким количеством туберкулина, как, например, 0,001 mgr. Если рассчитать, что это количество разбавляется в организме взрослого человека 5 литрами крови, получим такое гомеопатическое разведение туберкулина, которое не в состоянии вызвать какой-либо специфической реакции (напр., кожной реакции). Априорные соображения говорят, что вприснутый туберкулин, весь или почти весь, концентрируется в туберкулезных очагах.

б) Эксперименты. Если к вакцине присоединить какой-либо индикатор, напр., железные квасцы, и такую феррированную вакцину вприснуть под кожу животному, у которого в полости брюшины находится шпигитый коллоидный мешочек с бульонной культурой того же микроба, то в полости брюшины, кроме специфической реакции, можно обнаружить значительные следы железа, тогда как в контрольных опытах, где вприскивается одно железо или феррированная вакцина несоответствующего микроба, в сенсibilизованных очагах констатировать железо не удается.

Эти опыты дали возможность говорить о «химовакцинотерапии», т. е. о присоединении к вакцине химиотерапевтических веществ. Широкое распространение в СССР уротропено-гомококковой вакцины² есть результат этих опытов. Быть может, употребление таких вакцин, как ядовитоксина (Raque и Senez), формозоновые вакцины (Costa), сульфовакцины (Bergeron и Vagham), атроновакцины и проч., также исходит из вышеописанного принципа.

Очень интересные опыты датского бактериолога Walbom'a³. Он нашел, что мышный тиф, дающий 100% смерти, дает 100% выздоровления, если инфицированным мышам вприскивать вакцины из бактерий мышного тифа с раствором марганца определенной концентрации (одна марганец или одна вакцина дают те же 100% смерти).

II. Уже старые работы, вышедшие из И-та Пастера и других лабораторий (Мечникова, Delezenne'a, Безредки, Метальникова, Landstein'a, Белоногова и др.) относительно цитотоксина, говорят о специфичности их действия. Если эта специфичность и неполная, то все же, при действии специфической сыворотки, на первом плане — специфическое действие на соответствующие клеточные элементы.

Эти-то соображения дали возможность предполагать, что при соединении эмульсий различных органов с различными химическими веществами и инъекции смеси животному будет наблюдаться специфическая концентрация введенных химических веществ в тех органах, эмуль-

сии которых употреблялись для приготовления смеси, так как такая соответствующих органов надо считать сенсibilизованной к клеткам этого органа.

С целью проверить указанную гипотезу нами был произведен ряд экспериментов. В первую очередь были испытаны смеси эмульсий органов с солями железа, как веществом, легко отрываемым в тканях органов; затем смеси эмульсий органов с красками: карнином и tripanblau и, наконец, эмульсии органов с натр. салейл. Определение наличия этих веществ в органах, послуживших для эксперимента животных, производилось или исследованием срезов органов или химическим исследованием выжимки из органов. Несколькими опытами было поставлено с химическим определением субстанций в желе органов. Всего было произведено 64 опыта на мышах, 20 — на свинках и 8 — на кроликах.

Эмульсии органов готовились стандартным образом. Животное убивалось эфиром, органы сразу вынимались, промывались, разрезались в ступе с песком, разбавлялись физиологическим раствором, взбалтывались в Schlenk-миске с соответствующим количеством химических веществ или красок и ставились в термостат на 12 час. Перед инъекцией взбалтывались повторно.

Предварительные опыты установили, что дозы — мозга 0,003, testes и легких — 0,01 и остальных органов — 0,1, могут быть применены обычно без гибели животного (мышы). При больших дозах происходит гибель животных, так как эмульсии из органов, как известно, являются токсичными (Brown и Allen, Jadasson и др.). Количество вводимо в виде железных квасцов железа также пришлось подбирать (опыты на мышках).

Табл. I.

Введено куб. см.	Концентрация железа	Исход
0,5	10%	Смерть через 1 час
0,5	1%	То же " 3 1/2 часа
1,0	0,09%	" " 18 "
0,5	0,09%	" " 36 "
0,25	0,09%	Жива

Таким образом, для опытов с железными квасцами бралось для инъекции 0,25 в. с. смеси, содержащей указанное выше количество ткани, в 0,09% растворе железных квасцов. Эмульсии вводились в вену и интраперитонеально. Инъекция повторялась через 24 часа через 12 часов после инъекции животное убивалось.

При вычислении доз делалось поправки на вес животного.

Табл. II.

Опыты с железными квасцами (мышы).

мышы №	Орган, с эмульсией которого вводился Fe.	Наличие Fe в органах			
		Печень	Селезенка	Мозг	Testes
11	Печень	+++	++	—	—
12	Мозг	+	++	+++	—
13	Почка	+	—	—	—
14	Testes	+	—	—	++++ капсула
15	Селезенка	+	++++	—	—
16	Одно Fe	+	+	—	—
17	Норм. живот.	+	+	—	—

Определение наличия железа производилось микрохимическим способом (аммонийный азотоксид, аммонизирование, 12 часов перенос в аммоний, 15 минут сжечь на 20% K₂FeC₄ в 1% HCl (ал. сжечь) аммонизация без докраски, так как поседая часто маскировала Fe в пастерине). В случае наличия Fe наблюдалась диффузная голубая окраска и синие-зеленоватые отложения.

* Дополнено на X-м Всесоюзном Съезде бактериологов в Одессе (сент. 1926 г.).

¹ Белоноговский, «Врач. Дело» 1923; Ожиге D. med. Week. № 28, 1924; Miller, J. of Immun. 1926, 6. Клячкин Ж. для усоверш. 1925, 11.

² Уротропин ввел по предложению Bruck'a (Kl. Week. 1922).

³ Seuchenbek. 1926, Bd. III, 5/6.

Как видно из табл. II, железо часто наблюдалось и в других органах, но всегда в количестве значительно меньшем. Аналогичные опыты проводились с $K_4Fe_2(CN)_6$ (доза для инъекции: 0,25 1% го раствора) и дали аналогичные результаты. При убийствии животных через короткое время после инъекции (15-60 м.) специфического отложения железа не наблюдалось. При инъекции Fe с эмulsionей testis в самой ткани testis Fe не обнаруживалось, в то время как капсула testis давала резко выраженную реакцию на Fe.

Опыты с красками. Убедившись, таким образом, в наличии специфической концентрации растворимых солей Fe, мы предприняли опыты с коллоидными красками, вазал для этой цели кармин и tripanblau.

При повторной по инъекции наблюдалось, как известно, сначала диффузная инфильтрация соединительной ткани органов, затем через 24 часа образовались гранулярные отложения справа в печени, затем в селезенке, легких и т. д. (Goldmann, Аничков, Aschoff, Kizuo и др.). Нам было интересно выяснить, как будет проявляться отложение кармина при введении его с эмulsionей органов.

Опыты с эмulsionей. Кармин для окрашенной окраски употребляли в дозах 0,2-1,0 куб. с. 1% го раствора; с интервалом 2-3 дня до 4 раз, интубируя живот. Животные убивались через 24 часа после последней инъекции. Результаты видим на следующей таблице:

Табл. III.

№ животного	Орган, с эмulsionей которого вводилась краска	Наличие кармина в органах				
		Почки	Печень	Селезенка	Сердце	Легкие
25	Почки	++++	+	+	-	-
26	Печень	++	++++	+	-	-
27	Мозг	-	-	-	-	++
28	Селезенка	+	+	++++	-	-
29	Один орган	++	+	+	-	-

++++, +++, ++, +, - различные степени отложения кармина.

Определение наличия кармина производилось микроскопически в срезах (кусочки органов закладывались в формалин и частично дегидратировались метанолом спиртовой). Срезы закладывались в навадский баальм.

Как видно из табл. III, происходила ясная специфическая концентрация. Окраска и отложение кармина происходило и в других органах брюшной полости, но в значительно меньшей степени.

Опыты с tripanblau. Мы применяли для инъекции мышкам по 0,5 мл. с. 1% го раствора tripanblau с эмulsionей органов (см. выше). Производились повторные 4 раза интубируя живот, с промежутками 2-3 дня. Через 24 часа после последней инъекции мыши убивались. Полученные результаты можно представить на таблице IV.

Табл. IV.

№ животного	Орган, с эмulsionей которого вводилась краска	Наличие tripanblau в органах				
		Почки	Печень	Селезенка	Сердце	Легкие
34	Селезенка	+++	+	+	?	++
35	Печень	++	++++	+	+	-
36	Почки	++++	++	+	-	-
37	Легкие	-	+	?	-	+
38	Сердце	+	+	+	++++	-
39	Мозг	+	+	+	-	++
40	Один орган	-	+	+	+	-

Наличие tripanblau определялось микроскопически в срезах. Кусочки органов закладывались в парафин. Срезы закладывались в навадский баальм. В этих опытах также вполне ясно выражено специфическое отложение краски. Последняя видна в виде диффузной окраски и, главным образом, в виде синих клеток. Благодаря мелким частицам краски она легче распространяется по организму, чем кармин, и ее мы видим уже в органах грудной клетки. В этих опытах отложения краски есть почти во всех органах, но оно менее выражено, чем в органах, с эмulsionей которых вводилась краска.

Опыты с tripanblau и мозгом. В виду того, что в первых наших экспериментах мы не получали с этой краской никаких результатов, обработка мозгов была усилена. Пять мышей получали по 0,5 мл. с. мозговой эмulsionи (см. выше) в 1% го растворе tripanblau, являясь для в течение недели. В результате мы наблюдали появление синих клеток в поверхностных слоях мозга. Как контролы, исследованные мыши, которым вводилась и одна краска и краска с эмulsionей других органов (см. табл. IV). Ни в одном случае мы не обнаружили наличия краски в мозгах. Надо сказать, что и в указанных случаях положительный результат получался лишь у 3-х мышей (из 5). При аналогичных опытах со спинным мозгом получались более устойчивые и ясные результаты (один из следов, в течение 3 дней, вводился в спинной мозг 0,5 мл. с. 1% го раствора краски и в спинном мозге отложения эмulsionей мозга).

Таким образом, все эти опыты, обследованные микроскопически, дают ясную картину специфического отложения. Чтобы проверить объективность оценки результатов, были предприняты опыты с колориметрическим определением Fe и натрий салicyл в различных органах животных, после инъекции их растворов в смеси с эмulsionей равных органов.

Опыты производились на свинках. Смеси вводились однократно в количестве 1 мл. с. 1% го раствора $K_4Fe_2(CN)_6$ и такого же количества и концентрации натрий салicyл с эмulsionей органов. Животные убивались через 2 часа, и органы их исследовались по способу проф. Б. И. Борнштейна (Кутелева), а именно: органы устанавливались в воду в термостате 24 часа, вытеснен центрифугированием и исследовались на цветные реакции в промывочной среде. Окрашенные органы, ткани, о которых говорит Лущинский, у нас не получались (возможно — во-первых, из-за короткого времени, прошедшего до убийства животного), так что сравнить различные степени положительности реакций не пришлось, но отличие их от отрицательных при контрольных опытах было вполне несомненно.

Результаты можно представить в виде следующей таблицы:

Табл. V.

	Почки	Печень	Мозг	Селезенка
Реакция формидина, органов на Fe и натр. салicyл	+	+	+	-
Органы свинки, обработанные эмulsionей мозга + натр. салicyл	+	+	+	+
То же + $K_4Fe_2(CN)_6$	-	-	+	+
Орган свинки, обработанный натр. салicyл + натр. салicyл	+	+	+	+
То же + $K_4Fe_2(CN)_6$	-	-	-	-

+: положительная цветная реакция.
-: отрицательная.

Табл. V показывает (если сравнить результаты по вертикальным столбцам) подтверждение ожидаемых результатов. Получение положительных результатов в печени и селезенке с натрий салicyл. В этих опытах ничего удивительного не представляет, так как, по опытам Лущинского¹, эти органы усилительно поглощают синильный натр.

В заключение можно привести данные, полученные при химическом исследовании водного остатка свинки, обработанной вышеуказанными методами. Исследование производилось сканированием определенной навески (количества) органа, зола растворялась в соляной кислоте, количество железа в растворе определялось колориметрически (см. табл. VI).

Табл. VI.

	Мозг	Печень
Нормальные органы	0,045% ₁₀₀	0,2% ₁₀₀
Органы животного, обработанного одним Fe	0,034% ₁₀₀	1,3% ₁₀₀
Органы животного, обработанного Fe + эмulsionей соответствующего органа	0,15% ₁₀₀	3,5% ₁₀₀

¹ См. Лущинский. М. Мед. Журн. 1925, 6.

² Л. с.

Цифры, полученные с нормальными органами, соответствуют данным, полученным Georgeham¹ для мыша (0,01–0,018%) и Larique² для печени (0,42%) у взрослых животных.

В заключение мы приведем опыты с равными опухолями крыс. Эти опыты произвел Никольский³ из части в нашей лаборатории, отчасти в раковом отделении проф. Петрова (б.ца им. Мечникова). Они дали очень убедительные результаты в интересующем нас направлении.

Опыты проводили на 6 сериях белых крыс, разного возраста, на которых поддерживался ритмический рост опухоли. Контрольным крысам вводили интравенно раствор triphlein от 1% до 10% концентрации, в количестве 1 г в 100 г, опытным же животным — то же количество такого же раствора крысам, но вместе с эмulsion из равной опухоли. Инъекция проводилась 2–4 раза, с интервалами 2–3 дня, через 24 часа после последней инъекции животные убивались. В результате крысы, носившие одной краской, представляли довольно слабо-окрашенные, при вскрытии же краску вместе с эмulsion из опухоли вся опухоль крысы представляла резкого цвета, выделяясь из всего окружающего, слабо-окрашенного. Особенно интенсивное окрашивание было в капсуле. Окразка (без новых инъекций) держалась около недели.

Все данные, таким образом, сходны. Можно говорить о большей или меньшей силе концентрации, но специфическая концентрация — организм — является или доказательной.

Насколько исследованию сыворотки из капсулы опухоли более гистологического характера: какие клетки обнаруживают наибольшее стремление к организации, какие изменения наблюдаются в структуре и проч., с чем приходится сталкиваться при изучении ретикуло-эндотелиального аппарата; все эти вопросы должны получить предметом дальнейших исследований.

Как же объяснить себе механизм такой избирательной концентрации? Во-первых, здесь может играть роль положительный химотаксис родственных клеток, или вернее родственных белковых или иных субстанций, увлекающих с собою присоединенное химическое вещество. Какие химические субстанции можно переносить таким образом в органы, — мы сейчас сказать не можем. Из прежних экспериментов, касающихся химиоаккумуляции (I. c.), выяснилось, что не всякие химические вещества можно присоединить к микробной вакцине. Так, например, отитокс легко присоединяется и переносится в бифидобактерии отчасти при соединении с пневмококками и менингококками и не переносится гонококками, очевидно, не вступая в соединение с гонококковым антигеном.

Существование положительного химотаксиса между родственными клетками мы можем подтвердить интересными опытами Born⁴. Он сражался перерезанными амфибиями, прикладывая друг к другу. Несмотря на то, что ткани не совпадали, сращение происходило таким образом, что соединительная ткань как бы отскакивала и срасталась с соединительной тканью, мышцы — с мышцами, органы — со своими же гомологами. Эти явления можно рассматривать, как проявления органоаксиса. В свете интересующих нас экспериментов получаются объяснение опыты Levaditi и Nicolau⁵ относительно биомикробов: висмут, соединенный с вытяжкой из печени, оказывая во много раз более сильное специфическое действие, чем простой раствор висмута. Если признать, что при сифилисе печень является одним из наиболее страдающих органов, механизм усиления висмута является понятным, так как последний сконцентрировывается преимущественно в печени.

Можно предположить еще другие процессы, которые наряду с органоаксисом обуславливают преимущественное накопление химических субстанций. Можно себе представить, что данный орган поглощает данное вещество в большей степени потому, что он находится в возбужденном состоянии, вызванном действием на него специфических аутоксисов, образовавшихся при вскрытии эмulsion из соответствующих органов. Из работы Хоршк⁶ мы видим, что при инъекции мозговой ткани животному в мозг у него наблюдаются изменения, аналогичные изменениям, полученным при применении цитотоксической специфической сыворотки. Клетки, находящиеся в возбужденном состоянии, сильнее вбирают в себя красящие и другие вещества (Siegmond⁷, Аничков⁸, Кузнецовский⁹).

Можно указать еще на один пример, где, видимо, играет роль изучаемое нами явление — вакцинация против бешенства. Virus бешенства находится преимущественно в нервной ткани. Применяя вакцинацию на эмulsion нервной ткани, мы достигнем цели вернее, чем пользуясь каким-либо другим материалом или тканью от больного животного: virus бешенства, соединенный с нервной субстанцией, стремится максимально в нервную же субстанцию, являющуюся главным местом нахождения вируса.

На основании приведенных опытов мы хотели бы сделать следующие выводы.

Выводы.

1. При инъекции животным коллоидных красок и некоторых химических веществ (железо, салициловой натр) в смеси с эмulsion различных органов происходит избирательная концентрация введенного химического вещества в том органе, с эмulsion которого оно вводится.
2. Механизм можно предположить двоякий: с одной стороны, положительный химотаксис родственных клеток (органоаксис), с другой — усиленное поглощение вещества клетками органа, находящимися в возбужденном состоянии, благодаря действию специфических цитотоксисов.

Из Лаборатории Ленинградского Туб. Института (дир. — проф. А. Я. Штернберг†)

Экспериментальная гоноррея у животных с видоизмененной конституцией.

Проф. Ар. Я. Штернберга, С. Г. Щедровского и Е. М. Рабиновича (Ленинград).

(С 2 таб.).

Литература по вопросу об экспериментальной гоноррее не велика. В течение очень долгого времени все попытки получить у животных гоноррею оказывались тщетными. Многим (Fonseca, Morax, Legrain) удавалось вызвать в уретре и конъюнктиве у кроликов и морских свинок, а Reesstierna — у человекоподобных обезьян слабую реакцию, красноту, раздражение, но без развития гонококков. Финкельштейну после предварительной анафилактизации подкожной клетчатки мышонки кролика токсичной дозой вакцины и введения после этого культуры гонококка (на кроличей среде) удалось вызвать развитие гонококка в ткани в течение не больше 3–4 недель. Эти неудачи побудили перейти к экспериментальной заражению после предварительной сенсибилизации, что, как известно, было с успехом применено Вассерманом, Безредкой и другими авторами при экспериментах с иными микробами. Эти авторы (Venulet, Sedan, Hermann, Zoeller) при помощи предварительной сенсибилизации сангвинных оболочек конъюнктивы, кишечника получали у кроликов заболевания в b. typhi и b. paratyph. B, а также тифозные, дифтерийные и дисентерийные керато-конъюнктивиты.

По отношению к гоноррее этот способ впервые использован Коробкова, Борю и Шеринорина в Саратов в 1925 году. Путем предварительной сенсибилизации железу сангвинных оболочек конъюнктивы уретры и влагалища и последовательного нанесения на эти сенсибилизированные участки гонококковой культуры им удалось вызвать у кроликов ряд характерных для гонорреи явлений с получением в мазках гонококков и гонококковых культур путем посевов. То же удалось получить Канинну и Фальберг из лаборатории Белоусовского на конъюнктиве у кроликов с характерной кишечной картиной гоноррейного конъюнктивита с накоплением гонококков в мазках и посевах. Такие же результаты на конъюнктиве у кроликов получали Прибылов и Павлова из Ленинг. Пастеровского Института.

В опытах этих исследователей процесс давался максимум 2½ месяца. Результаты, полученные при помощи сенсибилизации у всех вышеупомянутых авторов, должны считаться значительным успехом в области экспериментальной гонорреи. Однако, ни одному из этих авторов

¹ Цит. по Hammersten⁹, Финл. химик. 1914.

² Arch. f. Entwick. gesch. 1897, Bd. 4.

³ Ann. de l'Inst. Pasteur, 1924, № 3.

⁴ Диссерт. Харков, 1913.

⁵ M. med. Woch. 1923, № 1.

⁶ Kl. Woch. 1924, 38.